

HPLC-DAD 测定裸花紫珠中木樨草苷和毛蕊花糖苷

陈保

永康市骨科医院药剂科, 浙江 永康 321300

[摘要] 目的: 建立中药裸花紫珠中木樨草苷和毛蕊花糖苷的测定方法。方法: 采用高效液相色谱-二极管阵列检测法(HPLC-DAD) 选用 TSK gel ODS-100V (4.6 mm×250 mm, 5 μm) 色谱柱; 以乙腈-0.1%甲酸(50:50) 为流动相; 流速为 1.0 mL/min; 柱温为 35℃。检测波长程序为 0~20 min, 350 nm; 20~30 min, 330 nm。结果: 木樨草苷和毛蕊花糖苷具有良好的线性关系, 线性范围分别为: 0.079 6~1.194 μg ($r=0.999\ 8$)、0.612 8~9.192 μg ($r=0.999\ 9$); 两成分的平均加样回收率分别为 98.0% (RSD=0.82%)、98.0% (RSD=0.95%)。结论: 所建立的方法快速、简便、准确, 可用于评价裸花紫珠药材的质量。

[关键词] 高效液相色谱法-二极管阵列检测法(HPLC-DAD); 裸花紫珠; 木樨草苷; 毛蕊花糖苷

[中图分类号] R284.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415(2015)07-0275-02

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2015.07.122

裸花紫珠, 又称为赶风柴、饭汤叶、节节红、百花茶、亚寨凡等, 主产于我国海南、广东等地^[1]。裸花紫珠具有消肿散瘀、收敛止血、祛风除湿等功效, 临床上主要用于治疗妇科炎症、皮肤烧烫伤、术后产后出血等病症, 效果显著, 具有很大的开发和利用价值, 裸花紫珠片已经在临床中广泛应用^[2]。为更简便快速地控制裸花紫珠药材的质量, 本研究选取木樨草苷和毛蕊花糖苷为指标, 采用高效液相色谱-二极管阵列检测法(HPLC-DAD)测定其含量。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 安捷伦 1260 液相色谱仪; DAD 检测器 G1315A; 四元泵 G1311C; 柱温箱 G1316A; 工作站 G2170BA。

1.2 试剂 木樨草苷(111720-201307)和毛蕊花糖苷(111530-201310)购自中国药品生物制品检定所(供含量测定用); 色谱纯乙腈、甲酸购自国药集团化学试剂公司, 水为超纯水; 实验所用裸花紫珠药材收集自安徽亳州中药材市场, 由浙江中医药大学黄真教授鉴定为马鞭科植物裸花紫珠 *Callicarpa nudiflora* Hook.et Am 的干燥叶。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[3-4] 色谱柱: TSK gel ODS-100V(4.6 mm×250 mm, 5 μm)。流动相: 乙腈-0.1%甲酸(50:50)。流速: 1.0 mL/min。柱温: 35℃。检测波长: 0~20 min, 350 nm; 20~30 min, 330 nm。进样量: 10 μL。

2.2 溶液的配制

2.2.1 混合对照品溶液 分别取木樨草苷、毛蕊花糖苷对照

品适量, 精密称定, 加 70% 甲醇溶解并制成浓度分别为: 木樨草苷 0.039 8 mg/mL、毛蕊花糖苷 0.306 4 mg/mL 的混合溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液^[5] 取裸花紫珠药材粉末(过 4 号筛)约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇 50 mL, 密塞, 称定重量, 超声 30 min, 放冷, 再称定重量, 用 70% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 微孔滤膜(0.45 μm)滤过, 取续滤液, 即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 系统适应性试验 取上述混合对照品溶液、供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件进行测定, 采集色谱图, 结果见图 1~2。供试品溶液色谱图中, 木樨草苷、毛蕊花糖苷的保留时间与相应对照品溶液色谱图一致。

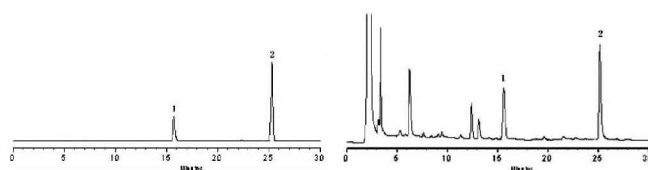


图1 对照品色谱图

图2 供试品色谱图

(注: 1 代表木樨草苷, 2 代表毛蕊花糖苷)

2.3.2 线性考察 取 2.2.1 项下对照品溶液, 分别进样 2、5、10、15、20、30 μL, 按 2.1 项下色谱条件进行测定, 分别记录峰面积。以峰面积(Y)对进样量(μg)进行线性回归方

[收稿日期] 2015-02-10

[作者简介] 陈保(1982-), 男, 主管药师, 研究方向: 临床药学。

程计算, 得木樨草苷、毛蕊花糖苷的回归方程分别为: $Y=6\ 033\ 711.414X+3\ 000.163$, $r=0.9998$; $Y=652\ 314.080X+954.638$, $r=0.9999$ 。结果表明, 木樨草苷、毛蕊花糖苷分别在 $0.079\ 6\sim 1.194\ \mu\text{g}$ 、 $0.612\ 8\sim 9.192\ \mu\text{g}$ 范围内具有良好的线性。

2.3.3 精密度试验 取 2.2.1 项下的对照品溶液, 按 2.1 项下色谱条件连续测定 6 次, 记录色谱峰面积。结果木樨草苷、毛蕊花糖苷峰面积 RSD 分别为 1.13%、0.81%, 表明仪器精密度良好。

2.3.4 重复性试验 取裸花紫珠待测样品, 按 2.2.2 项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件进行测定, 计算含量。经计算, 裸花紫珠药材中木樨草苷、毛蕊花糖苷的平均含量分别为 1.355 mg/g、8.561 mg/g, RSD 分别为 1.77%、1.20%, 结果表明该测定方法重复性良好。

2.3.5 稳定性试验 取上述供试品溶液, 分别在制备结束后的第 1、3、5、7、10 h 测定木樨草苷和毛蕊花糖苷的峰面积。经计算, 木樨草苷、毛蕊花糖苷的峰面积 RSD 分别为 1.74%、1.92%, 结果表明裸花紫珠供试品溶液在 10 h 内稳定性良好。

2.3.6 加样回收率试验 取已知含量(木樨草苷 1.355 mg/g、毛蕊花糖苷 8.561 mg/g)的裸花紫珠药材粉末 6 份, 各约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 分别精密加入对照品溶液(木樨草苷 0.027 mg/mL、毛蕊花糖苷 0.169 mg/mL)和 70% 甲醇各 25 mL, 密塞, 称定重量, 其余操作按 2.2.2 项下方法进行, 制得供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件进行测定, 计算加样回收率, 结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果

成分	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回 收率(%)	RSD (%)
木樨草苷	0.6794	0.675	1.341 7	98.12	98.0	0.82
	0.6749	0.675	1.335 6	97.88		
	0.6866	0.675	1.356 5	99.24		
	0.671 0	0.675	1.324 7	96.84		
	0.6909	0.675	1.354 4	98.30		
	0.681 3	0.675	1.339 8	97.56		
毛蕊花糖苷	4.2925	4.225	8.442 7	98.23	98.0	0.95
	4.264 2	4.225	8.393 7	97.74		
	4.337 9	4.225	8.538 4	99.42		
	4.239 4	4.225	8.323 7	96.67		
	4.365 3	4.225	8.521 4	98.37		
	4.304 5	4.225	8.423 0	97.48		

2.4 样品含量测定 取裸花紫珠药材样品(编号 1、2、3), 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件进行测定, 计算木樨草苷和毛蕊花糖苷的含量, 结果见表 2。木樨草苷的平均含量为 1.02 mg/g, 毛蕊花糖苷的平均含量为 9.25 mg/g。

表 2 含量测定结果

样品	木樨草苷	毛蕊花糖苷
1	1.355	8.561
2	0.976	10.054
3	0.734	9.131

3 讨论

本研究选取裸花紫珠药材中含量相对较高、可检测性强的 2 种成分: 木樨草苷、毛蕊花糖苷作为指标, 利用 DAD 检测器在不同波长处对以上 2 种成分进行检测, 不仅提高了分析效率, 而且保证了检测的灵敏度和精确度, 为评价裸花紫珠药材的质量提供了一个简便快速、准确的方法^[6]。

试验过程中, 以峰宽和对称因子为指标, 对流动相种类(甲醇、乙腈、甲酸、冰乙酸、磷酸)和比例进行了优选, 结果乙腈-0.1%甲酸(50:50)效果最佳。柱温对色谱峰的分离效果不产生影响, 但为保证分析测定的重现性, 将柱温设定为 35℃。

裸花紫珠现收载于《广州植物志》和《中药大辞典》, 即将收载于 2015 年版《中华人民共和国药典》, 这将为规范裸花紫珠药材的质量, 为其更合理开发利用提供保障。

[参考文献]

- [1] 张绮玲, 庞玉新, 杨全, 等. 裸花紫珠的本草考证[J]. 广东药学院学报, 2014, 30(5): 667- 671.
- [2] 蔡金平, 董琳, 关薇薇, 等. 裸花紫珠的研究进展[J]. 现代药物与临床, 2012, 27(1): 60- 64.
- [3] 管慧洁, 徐保利, 李先宽, 等. 锦灯笼药材木樨草苷含量测定[J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(2): 296- 298.
- [4] 尚伟庆, 贺清辉, 张建军. 地黄炮制过程中毛蕊花糖苷变化的研究[J]. 新中医, 2014, 46(5): 209- 211.
- [5] 李才堂, 文萍, 郭琦丽, 等. HPLC 测定裸花紫珠药材中毛蕊花糖苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(1): 84- 86.
- [6] 谭婷, 马航航. FHMIPv6 中基于 MLD 的 DAD 检测研究[J]. 中国海洋大学学报, 2008, 38(增刊): 5- 8.

(责任编辑: 吴凌)